

〈論文〉

エリンギ菌株間の遺伝的差異*

小島 靖・村上重幸**・松本晃幸**・福政幸隆**

Genetic Difference among the Commercial and Wild Strains of *Pleurotus eryngii* *

Yasushi OBATAKE・Shigeyuki MURAKAMI**・Teruyuki MATSUMOTO** and Yuktaka FUKUMASA-NAKAI**

日本国内の栽培品種および海外から収集した野生菌株を含むエリンギ18菌株について、体細胞不和合性と交配試験により菌株間の遺伝的差異を調査した。日本国内の栽培品種数菌株が、対峙培養において体細胞不和合性を示した。また、16菌株の不和合性因子構成を調査した結果、A因子およびB因子ともに、いくつかの菌株に共通した因子が認められ、それらの中には日本国内および海外における栽培品種が含まれた。これらの結果、日本国内のいくつかの栽培品種は共通の菌株を起源とし、遺伝的組成が近縁である可能性が示唆された。

Eighteen strains of *Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél., including commercial cultivars from Japan and foreign countries as well as wild strains collected from nature, were examined to evaluate their for genetic difference by using somatic incompatibility test and mating test. The constitution of the multiple alleles at A and B incompatibility factors were examined for 16 strains used. The allelic repeats for incompatibility factor were mostly detected in the commercial cultivars. Also, among some strains cultivated in Japan, somatic compatibility interaction was present. It was revealed that the *P. eryngii* cultivars in Japan might have a common origin or closely genetic relatedness. This genetic information may assist outbreeding in crosses among monokaryons derived from the wild and the cultivated strains that have indistinguishable origins.

1. 緒言

きのこの育種において、既存の栽培品種はそれ自体既
に選抜されたものであることから、栽培において有利な
形質を蓄積しており、育種材料としても有用である。し
かし、祖先を共通とし遺伝的組成が近縁な栽培品種が広
く栽培されることは、様々な病虫害に対する抵抗性や感
受性も共通しており、栽培上劇的な障害を発生する危険
性を孕んでいる。一般に、担子菌類の分類学ならびに遺
伝学的研究において、近縁種間あるいは菌株間の識別お
よび遺伝的差異の推定には、体細胞不和合性（対峙培養
における帯線形成）、分子遺伝学的手法、不和合性因子
の分析などの手法が用いられている¹⁾。これまで、わ
が国の主要な栽培食用きのこであるシイタケ [*Lentinula*
edodes (Berk.) Pegler]^{2,3)} やナメコ [*Pholiota nameko* (T.
Ito)]⁴⁾ の自然集団において、不和合性因子の種類およ
び地理的分布が調査され、それらが菌株間の遺伝的関係

を推察する上で有用であることが示されている。さらに
時本ら²⁾ は、シイタケの不和合性因子の調査から、西
日本のシイタケ自然集団は広く栽培されている2、3の
栽培品種に由来する不和合性因子をしばしば保有するこ
とを明らかにしている。また、善如寺は⁵⁾ ヒラタケに
ついて、市場で販売されている約100種類の種菌は、不
和合性因子の分析の結果では2、3の系統に分類でき
ると述べている。このように不和合性因子分析は、自然集
団だけでなく、栽培品種の菌株間の遺伝的関係を推察す
る上でも有効である。

エリンギ [*Pleurotus eryngii* (DC.: Fr.) Quél.] は1993年
澤により初めて日本に導入され^{6,7)}、現在様々な品種
が流通していると考えられるが、現時点でこれら栽培品
種の遺伝的関係を明らかにしておくことは、今後エリン
ギの交雑育種を進めていく上で不可欠である。本論文で
は、1996年頃から日本国内で栽培されているエリンギ裁
培品種、海外の栽培品種および野生菌株を用いて、それ

*：本研究は農林水産省委託事業「先端技術を活用した農林水産研究高度化事業」によるものである

**：財団法人 日本きのこセンター菌茸研究所 **：Tottori Mycological Institute

らの体細胞不和合性および不和合性因子を調査し、菌株間の遺伝的差異について検討した結果を述べる。

2. 材料および方法

2.1 菌株

実験に用いた菌株は表1に示す18菌株である。不和合

性因子分析については514およびNara No.1を除く16菌株を用いた。日本国内の栽培品種は、1996年以降に種菌として入手したものと、市販子実体から組織分離したものである。市販子実体については外見から菌株の異同を判断することは困難であるため、産地の異なるものは異なる菌株として扱った。全ての菌株が異なる菌株と仮定し、暫定的に不和合性因子番号を付与した(表1)。

表1 供試菌株
Table 1. Fungal strains

菌株	暫定的不和合性因子	菌株の由来
Strain	Assigned incompatibility factor	Locality or Origin and source
TMIC-2 ^a	A1B1, A2B2	鳥取県内栽培品種 Strain commercially cultivated in Tottori pref., Japan
Germany ^b	A3B3, A4B4	ドイツ Germany
NPE009 ^c	A5B5, A6B6	日本国内栽培品種 Commercial strain in Japan
KX EG-G	A7B7, A8B8	日本国内栽培品種 (キノックス) Commercial strain in Japan (KINOX ^d)
WC827	A9B9, A10B10	ロシア産 (ペンシルバニア州立大学保存菌株) Russia (PSUMCC ^e)
KX EG-9	A11B11, A12B12	日本国内栽培品種 (キノックス) Commercial strain in Japan (KINOX ^d)
Taiwan	A13B13, A14B14	台湾栽培品種 Commercial strain in Taiwan
ATCC36047	A15B15, A16B16	チェコスロバキア産 (ATCC36047) Czechoslovakia (ATCC36047 ^f)
ATCC96054	A17B17, A18B18	ハンガリー産 (ATCC96054) Hungary (ATCC96054 ^f)
UNICORN	A19B19, A20B20	アメリカ合衆国栽培品種 (UNICORN) Commercial strain in U.S.A. (UNICORN ^g)
ATCC90787	A21B21, A22B22	スペイン産 (ATCC90787) Spain (ATCC90787 ^f)
Czech ^b	A23B23, A24B24	チェコ共和国 Czech
ATCC90212	A25B25, A26B26	ギリシャ産 (ATCC90212) Greece (ATCC90212 ^f)
ATCC90888	A27B27, A28B28	フランス産 (ATCC90888) France (ATCC90888 ^f)
ATCC90887	A29B29, A30B30	フランス産 (ATCC90887) France (ATCC90887 ^f)
NPE010	A31B31, A32B32	日本国内栽培品種 Commercial strain in Japan
514		ペンシルバニア州立大学保存菌株PSUMCC ^e
Nara No.1		日本国内栽培品種 Commercial strain in Japan

a 日本きのこセンター菌蕈研究所保存菌株 ^aTottori Mycological Institute Culture Collection.

b 森林総合研究所九州支所 根田仁氏より分譲 ^bH.Neda in Kyushu branch of Forestry and Forest Products Research Institute, Japan in 1997

c 1996年に奈良県高取町で販売されていた子実体より組織分離した。 ^cAuthor isolated from fruit-body purchased in a grocery store in Takatori, Nara, Japan in 1996.

d 株式会社キノックス、宮城県 ^dKINOX Co., Ltd., Miyagi, Japan.

e ペンシルバニア州立大学保存菌株 ^ePennsylvania State University Mushroom Culture Collection.

f アメリカンタイプカルチャーコレクション ^fAmerican Type Culture Collection.

g ユニコーン社、アメリカ合衆国テキサス州 ^gUNICORN Imp & Mfg Corp., Texas, USA.

h 1996年に奈良県大淀町で販売されていた子実体より組織分離した。 ^hAuthor isolated from fruit-body purchased in a grocery store in Ooyodo, Japan in 1996.

表2 エリンギ菌株間の体細胞不和合性反応
Table 2. Somatic incompatibility patterns among the strains of *Pleurotus eryngii*

Strain	ATCC96054	ATCC36017	ATCC90212	ATCC90887	ATCC90888	ATCC90787	Germany	KX EG-9	Taiwan	NPE009	NPE010	TMIC-2	Czech	KX EG-G	514	WC827	UNICOR	Nara No.1
ATCC96054	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC36017	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90212	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90887	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90888	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90787	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Germany	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KX EG-9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Taiwan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NPE009	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NPE010	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TMIC-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Czech	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
KX EG-G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
514	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
WC827	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
UNICORN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NaraNo.1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+:体細胞不和合反応 (帯線形成あり) Somaticlly incompatible. -:体細胞相合反応 (帯線形成なし)、Somaticlly compatible.

表3-1 エリンギ交配型テスター菌株間の交配様式
Table 3-1. Mating compatibility patterns among mating-type testers from single-spore isolates of *Pleurotus eryngii*

Tester No.	ATCC96054	ATCC36017	ATCC90212	ATCC90887	ATCC90888	ATCC90787	Germany	KX EG-9	Taiwan	NPE009	NPE010	TMIC-2	Czech	KX EG-G	WC827	UNICORN
37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
38	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ATCC96054	33	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC36017	34	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ATCC90212	35	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90887	36	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90887	51	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90888	52	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90887	53	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90888	54	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90887	59	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90888	60	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ATCC90887	61	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ATCC90888	62	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90887	55	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ATCC90888	56	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ATCC90887	57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ATCC90888	58	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+:相合性反応、Compatible.
-:不和合性反応、Incompatible.

2.2 対峙培養

菌株間の体細胞不和合性を調べるため、対峙培養における帯線形成の有無を調査した。培地はMYG寒天培地(麦芽エキス20g、酵母エキス2g、グルコース20g、寒天15g、蒸留水1000ml)を用いた。この培地10mlを直径90mmの滅菌ペトリ皿に分注した。培地の中央付近に約20mm離して、あらかじめ同じ培地で培養したそれぞれ異なる2つの菌株の菌糸片(直径約5mm)を接種した。接種したプレートは25℃暗黒下で培養し、両接種源から生長したコロニーの接触を確認し、引き続き25℃、蛍光灯照射下で1-2週間培養した。対峙培養は各組み合わせ2回繰り返して行った。

2.3 交配試験

単胞子分離および交配の条件は前報⁸⁾で述べたとおりである。表1のうち16菌株について、単胞子分離によりそれぞれ50系統の一核菌糸体を分離した。その中から、菌糸生長が良好な一核菌糸体20系統を選び、菌株ごとにそれらを総当たり交配した。前報で述べた交配型分析により、16菌株全てについてそれぞれ4つの交配型テスターを選抜した。菌株によっては明瞭なB因子共通の交配反応が確認できない組み合わせもみられたが、この場合、和合性交配反応のみを指標として4つのテスターを決定した。続いて、各菌株の4つの交配型テスターを総当たり交配し、菌株間の不和合性因子型を同定した。

3. 結果

3.1 体細胞不和合性反応

同一菌株の対峙培養では、コロニー接触部に帯線形成はみられず、互いのコロニーは混じりあった。用いた18菌株の総当たり組み合わせ153組のうち、146組み合わせの接触部において、体細胞不和合を示す帯線形成が認められた(表2)。しかし、残りの7組み合わせ、すなわちNPE009、NPE010およびTMIC-2の3菌株、CzechとKX EG-Gの2菌株、WC827、514およびUNICORNの3菌株のそれぞれの組み合わせでは、互いに帯線形成が見られなかった。

3.2 不和合性因子分析

供試した16菌株全てにおいて、前報⁸⁾の結果と同様に典型的な四極性の交配様式が認められた。また、いくつかの菌株において、B因子の組み換え型が出現したが、A因子の組み換え型は検出されなかった。

これらの16菌株から選抜した交配型テスターを総当たり交配した結果を表3に示す。ATCC96054株は他のどの菌株とも和合性交配を示さなかった。さらにいくつかの菌株間の組み合わせにおいて、同一の交配因子と思われ

表4 エリンギ菌株間で共通する不和合性因子

Table 4. Replication of incompatibility factors in stock cultures of *Pleurotus eryngii*

共通するA因子 Replicated A factor		共通するB因子 Replicated B factor	
1 TMIC-2	5 NPE009	1 TMIC-2	5 NPE009
	11 KX EG9		8 KX EG-G
	13 Taiwan		15 ATCC36047
	15 ATCC36047		23 Czech
	31 NPE010		31 NPE010
2 TMIC-2	6 NPE009	2 TMIC-2	6 NPE009
	8 KX EG-G		11 KX EG9
	23 Czech		13 Taiwan
	32 NPE010		32 NPE010
7 KX EG-G	12 KX EG9	7 KX EG-G	12 KX EG9
	14 Taiwan		14 Taiwan
	24 Czech		24 Czech
9 WC827	19 UNICORN	9 WC827	19 UNICORN
10 WC827	20 UNICORN	10 WC827	20 UNICORN

る不和合性反応を示す組み合わせが認められた。不和合性因子の異同を解析した結果、表4に示すように同一の不和合性因子を共通して持つ菌株がみられた。このうち、TMIC-2、NPE009およびNPE010、KX EG-GとCzechあるいはTaiwanとKX EG-9の2つの不和合性因子構成はそれぞれ全く同じであった。さらにこれらの菌株の不和合性因子は、A因子がA1、A2およびA7、B因子がB1、B2およびB7の3種類から成ることが認められた。また、ATCC36047のAおよびB因子がTMIC-2、NPE009、およびNPE010と共通し、A1およびB1因子を持っていた。一方、WC827とUNICORNの不和合性因子構成は全て共通していたが、上記グループとは異なる構成であった。他の菌株はすべて異なる不和合性因子を持っていた。

4. 考察

供試した16菌株のうち、ATCC96054株は全ての菌株と対峙培養において帯線を形成し、一核菌糸体間での交配においても全く和合性を示さず、他の菌株とは異なった。Zervakis et al.によれば、エリンギはアイソザイム分析によって明確に他のヒラタケ属菌とは区別されるが、宿主植物の違うエリンギの3つのecotype間では、同一のecotype間よりも交配率は低く、生殖的隔離が見られることを報告している^{9,10)}。このことから、ATCC96054

株は日本国内で栽培されているエリンギとは異なる、*Pleurotus eryngii*-complexの1種である可能性が考えられる。

残りの15株のうち8菌株には、共通して同一の不和合性因子がみられ、A因子 (A1, A2, A7)、B因子 (B1, B2, B7) ともに3種類の因子のうちそれぞれ2種類の因子を保有していた(表4)。これらの菌株のうちTMIC-2、NPE009およびNPE010は対峙培養においても帯線を形成しなかった。同様に、KX EG-GとCzech、WC827とUNICORNも同じ不和合性因子を持ち、かつ帯線形成が見られなかった。また、KX EG-9とTaiwanはA、Bとも共通の不和合性因子を保有しており(表4)、対峙培養においても帯線の形成は見られなかった。これらの菌株の多くが日本国内の栽培品種あるいは海外の栽培品種であるので、それらの由来を考察する上で興味深い。この結果から、帯線形成が見られず、共通のAおよびB不和合性因子を保有する菌株は同一菌株か遺伝的に近縁な菌株であることが考えられる。松本らは⁴⁾ 二極性担子菌であるナメコの自然集団について同様の検討を行い、共通する不和合性因子を保有し、帯線形成も認められないものの地理的起源の異なる菌株において、両菌株のゲノムDNAのRAPD解析では両菌株に違いが認められ¹¹⁾、これらの菌株が自殖株である可能性があると考えられている。2つの不和合性因子が共通していたエリンギについても、それらの遺伝的関係の詳細な検討のためには、分子遺伝学的手法を用いて検討する必要がある。

栽培品種以外の野生菌株では、ATCC36047株を除きすべて不和合性因子が異なった。Whitehouse¹²⁾ および Raper¹³⁾ は担子菌類の自然集団の不和合性因子の数の推定式を提示し、Whitehouse¹²⁾ は一般に担子菌類の自然集団にはA、B因子ともに100のオーダーで対立遺伝子が存在するであろうと推定している。今回のエリンギの結果については、菌株数が少ないためこの点については考察できなかった。シイタケ^{2,3)} やナメコ⁴⁾ の自然集団についての検討結果では、不和合性因子の対立遺伝子数が理論的な推定値に比べ少なく、この原因としてシイタケでは、栽培品種に由来した担子胞子の自然界への拡散を指摘している。エリンギについては、日本国内には自然集団は存在していないため、こうした問題は無いといえる。しかし、日本国内および海外の栽培品種に共通する不和合性因子が認められたことから、既に栽培品種において遺伝的画一化が進行しつつあると考えられる。エリンギでは、国内に自生する担子菌類の様にその育種材料を自然集団に求めることはできない。また、自生地ではセリ科植物に寄生するきのこであり、野生菌株の導入

にあたってはこの点を充分考慮しておかなければならない。これらの理由から、エリンギの育種は今後も既存品種の改良を中心に推進されると考えられる。従って、育種素材としての既存菌株の遺伝的評価あるいは菌株の識別にあたっては、さらに精度が高く確実な手法による検討が必要である。最近、Terashima et al.¹⁴⁾ はDNAのAFLP解析がシイタケ栽培品種を識別する手法として極めて有効であることを証明している。今後エリンギの育種においても、品種の異同を明確に示すためには、DNA解析手法の利用が不可欠であろう。

引用文献

- 1) Fukuda, M., Fujishima, M. and Nakamura, K.: Genetic differences among the wild isolates of *Flammulina velutipes* collected from a fallen tree of *Broussonetia papyrifera*. Rep. Tottori. Mycol. Inst. 38, 23-31 (2000)
- 2) 時本景亮、小松光雄、武丸恒雄：日本のシイタケ自然集団における不和合性因子。菌蕈研報. 10, 371-376 (1973)
- 3) 長谷部公三郎：シイタケの突然変異および農業形質に関する遺伝・育種学的研究。菌蕈研報. 29, 1-69 (1991)
- 4) 松本晃幸、三村公人、福政幸隆：ナメコ自然集団における不和合性因子の分布。菌蕈研報 37, 71-76 (1999)
- 5) 善如寺 厚：“6章 育種”。きのこ学。古川久彦編。東京、共立出版、1992
- 6) 澤 章三：外国産きのこ「*Pleurotus eryngii*」の栽培方法について。42回日林中支論. 277-280 (1994)
- 7) 澤 章三：新特産シリーズ エリンギ。東京、農文協、2001.
- 8) 小島 靖、村上重幸、松本晃幸、福政幸隆：エリンギの交配系および不和合性因子の解析。奈良森林技セ. 33, 1-5 (2004)
- 9) Zervakis, G. and Labarere, J.: Taxonomic relationships within the fungal genus *Pleurotus* as determined by isoelectric focusing analysis of enzyme pattern. J.Gen. Microbiol. 138, 635-645 (1992)
- 10) Zervakis G, Sourdis J, and Balis C : Genetic variability and systematics of eleven *Pleurotus* species based on isozyme analysis. Mycol.Res. 98, 329-341 (1994)
- 11) Obatake, Y., Matsumoto, T., Mimura, K. and Fukumasa, N. Y. : Genetic relationships in natural population of *Pholiota nameko* from Japan based on DNA

- polymorphisms. Mycoscience. **43**, 463-469 (2002)
- 12) Whitehouse, H. L. K. : Multiple-alleomorph heterothallism in the fungi. *New Phytol.* **48**, 212-244 (1949)
 - 13) Raper, J. R. Genetics of sexuality in higher fungi. The Ronald Press Co., New York, 1966
 - 14) Terashima, K., Matsumoto, T., Hasebe, K. and Fukumasa-N. Y. : Genetic diversity and strain-typing in cultivated strains of *Lentinula edodes* (the shii-take mushroom) in Japan by AFLP analysis. *Mycol.Res.* **106**, 34-39 (2002)

(2003年11月29日受理)